

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Anja Hohnjec

**Značaj EBV serološkog statusa
bolesnika s upalnom bolesti crijeva**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Anja Hohnjec

**Značaj EBV serološkog statusa
bolesnika s upalnom bolesti crijeva**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2017.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za gastroenterologiju i hepatologiju na Odjelu za upalne bolesti crijeva Kliničkog bolničkog centra Zagreb pod vodstvom doc. dr. sc. Silvije Čuković-Čavke i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2016/2017.

Popis i objašnjenje kratica korištenih u radu :

IBD – Upalna bolest crijeva (eng. Inflammatory bowel disease)

ECCO – Europska organizacija za Crohnovu bolest i ulcerozni kolitis (eng. European Crohn's and Colitis Organisation)

CDAI – Indeks aktivnosti Crohnove bolesti (eng. Crohn's Disease Activity Index)

NOD2 – Nukleotid oligomerizirajuća domena 2 (eng. Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2)

CARD15 – Kaspasa-aktivirajuća i regrutirajuća domena 15 (eng. Caspase recruitment domain-containing protein 15)

NFkB – Nuklearni faktor kapa B (eng. Nuclear factor-kappaB)

UCEIS - eng. Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity

EBNA – Epstein-Barrov nuklearni antigen (eng. Epstein–Barr nuclear antigen)

LMP – Latentni membranski protein (eng. Latent membrane protein)

EBV - Epstein-Barrov virus

VCA IgM - Virusni kapsidni antigen IgM (eng. Viral capsid antigen IgM)

VCA IgG – Virusni kapsidni antigen IgG (eng. Viral capsid antigen IgG)

CB - Crohnova bolest

UK - Ulcerozni kolitis

TNF – Faktor nekroze tumora (eng. Tumour necrosis factor)

LPD – Limfoproliferativni poremećaj (eng. Lymphoproliferative disorder)

SADRŽAJ :

1. Sažetak.....	I
2. Summary	II
3. Uvod.....	1
3.1. Upalna bolest crijeva.....	1
3.1.1. Epidemiologija	1
3.1.2. Patogeneza upalnih bolesti crijeva.....	1
3.1.3. Klinička slika upalnih bolesti crijeva	3
3.1.4. Dijagnostika	6
3.1.5. Liječenje	10
3.2. Epstein-Barrov virus.....	11
3.3. Upalna bolest crijeva i Epstein-Barrov virus	13
4. Hipoteza.....	15
5. Cilj rada	16
6. Ispitanici i metode rada	17
7. Rezultati	18
8. Rasprava	21
9. Zaključci.....	26
10. Zahvale	27
11. Literatura	28
12. Životopis	33

Sažetak

Značaj EBV serološkog statusa bolesnika s upalnom bolesti crijeva
Hohnjec Anja

Prevalencija Epstein-Barrovog virusa (EBV) iznosi više od 90% u odrasloj populaciji. Klinički se EBV infekcija uglavnom prezentira u obliku infektivne mononukleoze i najčešće predstavlja samoizlječivu bolest u imunokompetentnih osoba. U skupini bolesnika koji se liječe imunosupresivnim lijekovima, primarna infekcija, a ponekad i latentna EBV- infekcija mogu rezultirati smrću ili u konačnici razvojem limfoproliferativnih bolesti. S obzirom da rezultati dosadašnjih istraživanja ukazuju na povišeni rizik razvoja infekcija i limfoproliferativnih poremećaja u bolesnika s upalnom bolesti crijeva (IBD), recentno je uvedena preporuka da se provjeri EBV serološki status u bolesnika odmah kod postavljanja dijagnoze upalne bolesti crijeva. Stoga je cilj ovog rada bio analizirati EBV serološki status u IBD bolesnika koji se liječe u Ambulanti za upalne bolesti crijeva KBC-a Zagreb i usporediti prevalenciju s rezultatima do sada objavljenih studija u drugim populacijama. Istraživanje je provedeno u 67 bolesnika s Crohnovom bolešću i 32 bolesnika s ulceroznim kolitisom. Analizirani su podaci iz bolničkog informacijskog sustava (BIS) te potom učinjena statistička obrada podataka. Prosječna životna dob bolesnika iznosila je 37,7 godina. Od ukupnog broja bolesnika 7,07% je bilo seronegativno, a najviša stopa seronegativnih bolesnika utvrđena je u dobi između 18 i 27 godina te je ona iznosila 25%. U dobnoj skupini bolesnika između 28 i 37 godina utvrđeno je još dvoje seronegativnih pacijenata, a u starijih iznad 37 godina svi bolesnici su bili EBV seropozitivni. Podaci dobiveni u ovom istraživanju u korelaciji su s podacima svjetskih istraživanja.

Ključne riječi: Epstein-Barrov virus, upalna bolest crijeva, imunosupresivni lijekovi, limfoproliferativni poremećaji

Summary

Importance of EBV-status in inflammatory bowel disease patients

Hohnjec Anja

The Epstein-Barr virus, with a prevalence of more than 90% in the adult population and its most common clinical presentation as infectious mononucleosis, belongs to a group of self-limited diseases in immunocompetent patients. The problem occurs in immunocompromised patients, in which a primary or even latent EBV infection can result in fatal opportunistic infections or a development of lymphoproliferative disorders such as EBV lymphoma. Recent studies outlining the potential risk of developing lymphoproliferative disorders among IBD patients report about the concerning link between immunosuppression and lymphoproliferative disorders. The aim of this study was to identify the prevalence of seropositivity for the Epstein-Barr virus among IBD patients with at least one visit to the UHC Zagreb. 99 IBD patients were randomly chosen and their EBV serological status was investigated. The database of IBD patients previously followed at the UHC Zagreb was used and data analysis was performed using the MS Excel statistical software. The average age of the patients was 37.7 years. The analysis identified 67 patients with Crohn's disease and 32 patients with ulcerative colitis, and also revealed the highest seronegativity of 25% among patients in the age group from 18 to 27 years. Two more seronegative patients were found in the age range of 28 to 37 years. The patients above the age of 37 were all seropositive. The results from this study are in correlation with those of other studies.

Keywords: Epstein-Barr virus, inflammatory bowel disease, immunosuppression, lymphoproliferative disorder

3. Uvod

3.1. Upalna bolest crijeva

Upalna bolest crijeva (eng. Inflammatory Bowel Disease - IBD) je skupina kroničnih, upalnih, idiopatskih poremećaja koji zahvaćaju probavni trakt od usta do anusa. Među upalnim bolestima crijeva razlikuju se Crohnova bolest, ulcerozni kolitis i intermedijarni kolitis odnosno nedeterminirana upalna bolest crijeva koja se javlja u oko 10-15 % bolesnika (1). Tijekom života u bolesnika se izmjenjuju stanja remisije i relapsa, a distribucija pojave upalne bolesti crijeva je bimodalna. Prvi vršak incidencije je najčešće u dobi između 15 i 40 godina, a drugi između 50 i 80 godina (2). Ipak, u vrijeme dijagnosticiranja bolesti, većinom su bolesnici u mlađoj i srednjoj životnoj dobi te zbog toga često budu podvrgnuti cjeloživotnoj imunosupresivnoj terapiji.

3.1.1. Epidemiologija

Incidencija Crohnove bolesti u Europi kreće se u rasponu od 0.5 do 10.6 na 100,000 osoba/godinu dok je incidencija ulceroznog kolitisa u rasponu od 0.9 do 24.3 na 100,000 osoba/godinu (3). Na temelju ovih podataka procjenjuje se da u europskoj populaciji ima otprilike 1,6 milijuna bolesnika s Crohnovom bolešću te otprilike 2,1 milijuna bolesnika sa ulceroznim kolitisom na području cijele Europe (3). Najviše stope incidencije zapažene su ponajviše u sjevernim europskim zemljama, posebice u skandinavskim zemljama i Ujedinjenom Kraljevstvu, a najniže stope incidencije u južnim i istočnim zemljama Europe.

3.1.2. Patogeneza upalnih bolesti crijeva

Uzrok pojave ovih kroničnih, neizlječivih upalnih bolesti crijeva nije pronađen, ali se smatra da je u središtu poremećeni imunološki odgovor koji nastaje u osoba sa genetskom

predispozicijom uz indukciju štetnim čimbenicima iz okoliša (1). Godine 2001. istraživači su otkrili NOD2/CARD15 gen, prvi gen povezan s upalnim bolestima crijeva, a njegovim otkrićem potvrđena je uloga crijevnih bakterija u razvoju imunološkog poremećaja te je potvrđeno da su njegove mutacije povezane s nastankom Crohnove bolesti. Da su u patogenezi upalnih bolesti crijeva iznimno bitni genetski čimbenici potvrđuju i brojna istraživanja koja su dokazala genetsku osnovu bolesti utvrdivši da 15 % bolesnika sa Crohnovom bolešću imaju srodnika u obitelji koji također ima upalnu bolest crijeva. Mnoge provedene studije dokazale su da članovi obitelji oboljelog od IBD bolesti imaju 8 do 10 puta veći rizik za razvoj upalne bolesti crijeva (4). Uz to, istraživanja provedena na blizancima ukazala su na konkordantnost u 50% monozigotnih blizanaca u usporedbi s manje od 10% konkordantnosti u dizigotnih blizanaca (5).

U patogenezi IBD bolesti signifikantnu ulogu imaju i okolišni čimbenici. Prema dosadašnjim istraživanjima definitivno je dokazan štetan čimbenik pušenje koje povećava rizik za nastanak Crohnove bolesti za otprilike 1.9 puta te pogoršava prognozu u oboljelih (6). Prema dosadašnjim studijama pušenje ne povećava rizik kod nastanka ulceroznog kolitisa, već u suprotnosti ono djeluje protektivno, no sama patogeneza tog protektivnog djelovanja nije sasvim razjašnjena (6, 7). Mnoge studije, kako navodi Ananthakrishnan (8), ispituju povezanost raznih okolišnih čimbenika poput psihosocijalnih faktora i depresije, načina prehrane, vitamina D, uporabe oralne kontraceptivne terapije u žena sa razvojem upalnih bolesti crijeva, te zaključuju kako svaki od nabrojenih čimbenika u osobe s genetskom predispozicijom može dovesti do razvoja bolesti ili pak u oboljelih utjecati na aktivnost bolesti. Sljedeći iznimno bitni okolišni čimbenici su mikroorganizmi koji se nalaze u crijevu (9). Crijevni mikrobiom je zajednica koja se usporedno razvija sa domaćinom i time doprinosi poboljšanju crijevne funkcije na način da pomaže u metabolizmu nutrijenata, modulira imunosni odgovor te sudjeluje u obrani organizma od patogena. Pravilna interakcija

između crijevnog mikrobioma, imunosnog sustava i funkcije intestinalne barijere ključna je u patogenezi upalnih bolesti crijeva. Naime, disregulacija normalne homeostaze između crijevnog mikrobioma i obrambenog sustava organizma može dovesti do crijeвне upale (9). Istraživači dodaju kako upotreba antibiotika i lijekova poput nesteroidnih antireumatika također ima negativan utjecaj jer oštećuju intestinalnu barijeru i time povećavaju rizik nastanka upalnih bolesti crijeva. Tako se u istraživanjima zadnjih godina došlo do spoznaje da je antibiotska terapija provedena u prvoj godini života utvrđena kod 58% djece koja boluju od upalne bolesti crijeva dok je u kontrolnoj skupini bila provedena u 39% slučajeva te je time zapažen utjecaj upotrebe antibiotika na razvoj upalnih bolesti crijeva u djece (8, 10).

Recentnim istraživanjima zapaženo je da u IBD bolesnika dolazi i do promjene „crijevnog viroma“, a kao primarna promjena evidentirano je kvantitativno povećanje bakteriofaga (11). Naime, bakteriofagi su specifična vrsta virusa, svaki svojstven određenoj bakteriji na čiji se račun razmnožavaju te se smatra da je njihova uloga u održavanju mikrobiološke ravnoteže, u svim ekosustavima, pa tako i u ljudskim crijevima. No bakteriofagi imaju sposobnost integriranja svog genoma u genom domaćina te time dovode do promjene genetskog materijala i posljedične promjene u crijevnom mikrobiomu. Istraživači razmatraju moguću ulogu bakteriofaga kod upalnih bolesti crijeva osobito s obzirom na njihovu sposobnost indukcije humoralnog imunosnog odgovora (11).

3.1.3. Klinička slika upalnih bolesti crijeva

Karakteristični klinički simptomi upalnih bolesti crijeva su učestali proljevi i bolovi u trbuhu, no unatoč sličnostima u prezentaciji Crohnove bolesti i ulceroznog kolitisa postoje određene specifičnosti (Tablica 1) prema kojima ih možemo klinički i dijagnostički razlikovati (12).

Patološke promjene u Crohnovoj bolesti mogu se pronaći u bilo kojem dijelu probavnog sustava od usne šupljine do analne regije. Granulomatozne upalne promjene koje se šire kroz

sve slojeve crijevne stijenke i pritom diskontinuirano zahvaćaju segmente crijeva karakteristične su za ovu bolest. U 75% bolesnika bolest zahvaća tanko crijevo, od toga su u 90% slučajeva patološke promjene lokalizirane u terminalnom ileumu. Izoliranu bolest tankog crijeva ima 30-40 % bolesnika, 40-50% ima ileokolitis, a 15-25% ima izoliranu bolest debelog crijeva. Trećina bolesnika sklona je razvoju perianalne bolesti kod koje se u bolesnika nalaze perirektalne fistule, fisure, apscesi i analna stenoza (1). Kod Crohnove bolesti fenotipski razlikujemo tri oblika bolesti : upalni (luminalni) fenotip, stenozirajući fenotip i penetrirajući (fistulirajući) fenotip. Klinička slika bolesti ovisi o lokalizaciji zahvaćenosti pojedinih dijelova probavnog sustava, a s obzirom na aktivnost bolesti izmjenjuju se razdoblja remisije i relapsa (1).

Ulcerozni kolitis se očituje ograničenom upalom crijevne sluznice i u manjoj mjeri je zahvaćena submukoza, dok dublji slojevi nisu zahvaćeni. Sluznica je obično crvena, granulirana i vulnerabilna te sklona krvarenju, a u područjima između ulkusnih promjena uvijek upalno promijenjena. Za ulcerozni kolitis karakteristična je oštra granica između upalno promijenjene i zdrave sluznice crijeva (1).

Tablica 1: Specifične karakteristike Crohnove bolesti i ulceroznog kolitisa (modificirano prema 12)

RAZLIKE IZMEĐU CROHNOVE BOLESTI I ULCEROZNOG KOLITISA:	
CROHNOVA BOLEST	ULCEROZNI KOLITIS
Tanko crijevo zahvaćeno upalom u 80% bolesnika	Ograničena upala na kolon
Rektum često pošteđen	Rektum uvijek zahvaćen
Značajno rektalno krvarenje je rijetko	Prisutno značajno rektalno krvarenje
Čest je nastanak fistula i apscesa	Fistula u pravilu nema
Perianalne lezije značajne u 25-35 % slučajeva	Značajne perianalne lezije iznimno rijetko nastaju
Asimetrično i segmentalno zahvaćanje crijevnih stijenki	Sluznica debelog crijeva zahvaćena je simetrično i kontinuirano od rektuma prema proksimalno
Endoskopski zahvaćanje upalom sluznice crijeva nije kontinuirano	Upala je jednolika i difuzna
Transmuralnost upale	Upala ograničena na sluznicu
Epiteloidni granulomi u 25-50 % slučajeva	Epiteloidni granulomi se ne nalaze

Klinički tijek ulceroznog kolitisa obilježen je razdobljima remisije i relapsa bolesti sa glavnom kliničkom prezentacijom krvavih proljeva i bolovima u trbuhu. S obzirom da je bolest primarno vezana uz patološke promjene u debelom crijevu, simptomi ulceroznog kolitisa ovise primarno o proširenosti bolesti i intenzitetu upale sluznice debelog crijeva. Kod otprilike 15-20 % bolesnika bolest poprima težak klinički tijek te može zahvatiti čitav kolon

uz pojavu učestalih, krvavih stolica praćenih sistemskim simptomima te je kod takvih bolesnika potrebna hospitalizacija. Kod bolesnika s teškim akutnim kolitisom postoji i rizik nastanka toksične dilatacije i perforacije crijeva (13).

Uz upalne promjene koje se javljaju u probavnoj cijevi, upalne bolesti crijeva mogu uzrokovati vancrijevne patološke promjene na drugim organima poput kože, jetre, očiju, žučnog i koštano-zglobnog sustava. Zahvaćenost drugih organa javlja se u oko 35 % bolesnika s upalnim bolestima crijeva. Vancrijevne manifestacije upalnih bolesti crijeva podijeljene su u dvije skupine s obzirom na aktivnost osnovne bolesti te se razlikuju:

- 1) reaktivne manifestacije koje su u ovisnosti o upalnoj aktivnosti osnovne bolesti –
periferni artritis, nodozni eritem, aftozni stomatitis, episkleritis,
- 2) druge manifestacije koje su neovisne o upalnoj aktivnosti osnovne bolesti
– gangrenozna pioderma, uveitis, aksijalna artropatija, primarni sklerozirajući
kolangitis.

Koštano-zglobni sustav zahvaćen je u 5-10 % bolesnika s ulceroznim kolitisom i u 10-20 % bolesnika s Crohnovom bolešću (14).

3.1.4. Dijagnostika

U dijagnostici upalnih bolesti crijeva koriste se laboratorijske, endoskopske i radiološke pretrage u kombinaciji s patohistološkom verifikacijom promjena bioptičkih materijala sluznice ili kirurški reseciranog materijala (1). Nakon provedene dijagnostike bolest se klasificira i analizira njezina upalna aktivnost i težina.

Za klasifikaciju Crohnove bolesti danas se internacionalno koristi "Montrealska revizija" Bečke klasifikacije koja je 2005.godine predstavljena na Svjetskom gastroenterološkom kongresu (Tablica 2). Ovu klasifikaciju preporuča i Europsko društvo za Crohnovu bolest i kolitis (ECCO), a njena upotreba je korisna u donošenju odluke o terapijskom postupku kod

bolesnika (15). „Montrealska“ klasifikacija bazira se na tri bitna elementa, a to su: dob kod postavljanja dijagnoze bolesti, lokalizacija patoloških promjena i predominantni fenotip. Osim definiranja proširenosti bolesti Montrealskom klasifikacijom, u predviđanju kliničkog tijeka i određivanja terapijske strategije koristan je također i sustav procjene kliničke aktivnosti bolesti. Jedan od najpoznatijih primjera procjene upalne aktivnosti je CDAI (eng. Crohn's Disease Activity Index). Navedeni indeks kliničke aktivnosti bolesti bazira se na 8 kliničkih i biokemijskih parametara : prisutnost mekih ili tekućih stolica, bolova u trbuhu, subjektivne procjene osjećanja bolesnika, postojanja komplikacija, uzimanja lijekova protiv proljeva, nalaza palpatoren rezistencije u trbuhu, odstupanja u nalazima hematokrita i postotak odstupanja od standardne težine. Matematičkim izračunom spomenutih parametara određuje se stupanj aktivnosti bolesti (Tablica 3) te se prema dobivenim rezultatima odlučuje za odabir terapijskog postupka (15).

Tablica 2. Klasifikacije Crohnove bolesti (prema 15)

	KLASIFIKACIJA	
	Bečka	Montrealska
Dob kod dijagnoze	A1 ispod 40 godina	A1 ispod 16 godina
	A2 iznad 40 godina	A2 između 17 i 40 god.
		A3 iznad 40 godina
Lokalizacija	L1 ileum	L1 ileum
	L2 kolon	L2 kolon
	L3 ileum i kolon	L3 ileum i kolon
	L4 gornji GI trakt	L4 samo gornji GI trakt
Predominantni fenotip	B1 nestrikturirajući, nepenetrirajući	B1 nestrikturirajući, nepenetrirajući
	B2 strikturirajući	B2 strikturirajući
	B3 penetrirajući	B3 penetrirajući
		P perianalna bolest

Tablica 3. Indeks aktivnosti Crohnove bolesti (prema 15)

BLAGA BOLEST	UMJERENO AKTIVNA BOLEST	TEŠKA BOLEST
CDAI 150-220	CDAI 220-450	CDAI > 450
<ul style="list-style-type: none"> - < 10% gubitka težine - bez nalaza opstrukcije, povišene temperature, rezistencije u trbuhu ili napinjanja strijenke - CRP najčešće povišen 	<ul style="list-style-type: none"> - Intermitentno povraćanje - Gubitak težine > 10% - Nedjelotvorno liječenje za blagu bolest - Nema znakova opstrukcije - CRP najčešće povišen 	<ul style="list-style-type: none"> - Kaheksija, BMI<18kg/m² ili nalaz opstrukcije ili apscesa - Perzistiranje tegoba unatoč intenzivnom liječenju - Povišen CRP
Upozorenja : simptomi opstrukcije nisu uvijek vezani uz upalnu aktivnost i trebaju biti vrednovani kao dodatni parametar		

Tablica 4. Montrealska klasifikacija aktivnosti bolesti u ulceroznom kolitisu (prema 15)

	S0	S1	S2	S3
	Remisija	Blagi	Umjereni	Teški
Broj stolice/dan Bez simptoma bolesti	≤ 4	> 4	≥ 6	
Krv u stolici		Može biti prisutna	Prisutna	Prisutna
Puls		Sve normalno	Nedostaju ili su minimalni znaci sistemne toksičnosti	> 90/min ili
Temperatura				> 37.5°C ili
Hemoglobin				< 10.5 g/dL ili
> 30 mg/LSE				> 30 mm/h ili
Ili CRP				

Tablica 5. Indeks procjene endoskopske aktivnosti za ulcerozni kolitis (prema 16)

Opisi najčešćih lezija	Likert ljestvica (bodovi)	Definicije
Vaskularni uzorak	Normalan (0)	Normalni vaskularni uzorak sa čisto definiranom arborizacijom kapilara
	Nejednolike obliteracije (1)	Nejednolike obliteracije vaskularnog uzorka
	Obliteriracija (2)	Potpuna obliteracija vaskularnog uzorka
Krvarenje	Nema (0)	Bez tragova krvi
	sluzničko (1)	Pojedinačna mjesta ili pruge koagulirane krvi na sluzničkoj površini
	Blago sluzničko (2)	Tragovi tekuće krvi u sluznici
	Sluzničko srednje do ozbiljno (3)	Direktna krv u lumenu vidljiva ispred endoskopa ili vidljivo krvarenje iz sluznice nakon ispiranja intraluminalne krvi ili vidljivo krvarenje iz hemoragično promijenjene sluznice
Erozije i ulkusi	Nema (0)	Normalna sluznica, bez erozija i ulkusa
	Erozije (1)	Mali (5mm) defekti u sluznici bijele ili žute boje
	Površinski ulkusi (2)	Veći (>5mm) defekti u sluznici smješteni na površini, koji su pokriveni fibrinskim naslagama
	Ulkusi u dubljim slojevima (3)	Dublji defekti sluznice s blago povišenim rubom

Za ulcerozni kolitis po pitanju procjene proširenosti bolesti koristi se Montrealska klasifikacija, a kod ocjene stanja aktivnosti ulceroznog kolitisa koristi se Mayo endoskopski indeks aktivnosti ili UCEIS (eng. Ulcerative Colitis Index of Severity (15, 16) (Tablica 5). Nedavne studije dokazuju kako je upravo UCEIS sustav procjene endoskopske aktivnosti

bolesti učinkovitiji od dosadašnjih u procjeni kliničkog ishoda i prognozi terapijskog tijeka (17). No u kliničkoj praksi kod određivanja aktivnosti bolesti koristi se također i Montrealski indeks aktivnosti (zapravo modificirana inačica Trueloveovih i Wittsovih kriterija) koji bolest dijeli u tri klinička oblika - blagi, umjereni i teški oblik ulceroznog kolitisa te prikazuje kriterije za remisiju bolesti (Tablica 4) (15).

3.1.5. Liječenje

Upalne bolesti crijeva liječe se medikamentno i/ili kirurški kada terapija lijekovima prestane biti učinkovita ili kada nastanu komplikacije. Kod odabira medikamentne terapije ključno je prethodno procijeniti karakteristike bolesti pojedinog bolesnika. Pri tome se analiziraju osnovne fenotipske karakteristike bolesti u pojedinca kao aktivnost bolesti, lokalizacija i ekstenzija patoloških promjena i upale te se dodatno razmatraju dosadašnji tijek upalne aktivnosti, prethodni odgovor na liječenje, prisutnost vancrijevnih manifestacija bolesti i prethodne komplikacije u toku liječenja. S obzirom na činjenicu da se u podlozi upalnih bolesti crijeva nalazi kronična upala uobičajeno se kod odabira terapije fokus stavlja na protuupalnu terapiju koja ima sposobnost moduliranja odgovora imunskog sustava (18). Stoga današnja terapijska strategija ima za cilj postizanje duboke remisije bolesti, pod čime se podrazumijeva istodobna klinička, laboratorijska i endoskopska remisija odnosno sluzničko cijeljenje zahvaćenog dijela probavnog trakta. Naime, mukozno cijeljenje sprečava prijelaz komezalnih bakterija u sluznicu i submukozu, te ne dolazi do aktivacije imunog sustava (19). Lijekovi koji se koriste u liječenju upalne bolesti crijeva su aminosalicilati, glukokortikoidi, antibiotici, imunosupresivi i biološka terapija (1).

3.2. Epstein-Barrov virus

Epstein-Barrov virus (EBV) pripada u skupinu velikih DNK-virusa s ovojnicom iz porodice *Herpesviridae*, potporodice gama-herpesvirusa. Prema novijim studijama prevalencija ovog virusa je otprilike 95% u odraslog dijela stanovništva diljem svijeta (20). Čovjek je domaćin virusa, a za njegov prijenos potreban je kontakt sa svježom tjelesnom tekućinom koja sadržava virus i, ukoliko se u prenositelja zbiva akutno umnažanje virusa prijenos je omogućen. Nakon što uđu u organizam, virusi se vežu za B- limfocite i stanice višeslojnog pločastog epitela u sluznici ždrijela. Nakon prihvaćanja za receptore virusi ulaze u stanice, stapanjem svojih ovojnica sa staničnom membranom, nakon čega se nukleokapsida ubacuje u citoplazmu, a virusna DNK ostaje u jezgri stanice u zasebnom episomu i rijetko se ugrađuje u genom domaćina (21). U daljnjem virusnom ciklusu razlikujemo litičke ili replikativne te latentne gene. U domaćinu se prvo počinju prepisivati latentni geni i to EBNA-2 (eng. Epstein-Barr nuclear antigen), koji svojim djelovanjem na genom omogućuju transkripciju svih EBNA- proteina, a nakon toga i LMP (latentni membranski protein) . Nakon primarne litičke infekcije, EBV perzistira doživotno u imortaliziranim memorijskim B-stanicama te može prelaziti iz latentnog u aktivni oblik ukoliko se virus reaktivira. Tijekom primarne i latentne infekcije B-limfocita osnovno je svojstvo virusa mogućnost pokretanja programa transkripcije latentnih gena, čiji produkti u ulozi faktora rasta induciraju stanice u blastnu transformaciju i mitozu, te ujedno sprečavaju apoptozu. U latentnoj fazi dolazi do ekspresije 9 gena uključujući EBV nuklearne antigene (EBNA 1, -2, -3A, -3B i -3C), glavni protein (LP) i latentne membranske proteine (LMP1, -2A i -2B). Ekspresija pojedinih latentnih gena razlikuje se tijekom primarne i perzistentne infekcije. Tako kod primarne infekcije budu najviše prepisivani virusni geni EBNA-3 i LMP-1 dok se u perzistentnoj infekciji prepisuju EBNA-1 i LMP-2, čime se izbjegava imunosno

prepoznavanje i omogućuje opstanak virusa u stanicama. Stalna blastna transformacija B-limfocita i nemogućnost apoptoze dovode do obrambenog odgovora organizma u obliku jake aktivacije T-limfocita, među kojima su najzastupljeniji CD8 (T-citotoksični) limfociti. Aktivacija specifičnih CD8 citotoksičnih limfocita bitna je kako bi došlo do eliminacije virusom inficiranih B-limfocita koji bi se u suprotnom beskrajno razmnožavali te u konačnici doveli do maligne alteracije i pojave limfoma kao što je slučaj u imunodeficijentnih osoba (20, 21).

Kako bi se odredio serološki status pojedinca za EBV infekciju koriste se ELISA testovi koji dokazuju prisutnost antitijela na određene antigene virusa. Serološki testovi koji otkrivaju antitijela specifična za EBV antigene najčešće su korišteni dijagnostički postupci za definiranje statusa infekcije u bolesnika. Koriste se uglavnom tri parametra, a to su VCA IgG, VCA IgM i EBNA-1 IgG (Tablica 6) te se pomoću njih u većini slučajeva može diferencirati akutna od prošle i kronične infekcije (21). Prisutnost VCA IgM i VCA IgG bez prisutnosti EBNA-1 IgG upućuje na akutnu infekciju, dok prisutnost samo VCA IgG i EBNA-1 IgG ukazuju tipično na prošlu infekciju (22). Osobe se deklariraju kao seronegativne osobe u slučaju negativnih nalaza IgG-anti VCA i IgM-anti VCA protutijela.

Tablica 6. Konstelacija specifičnih protutijela u različitim fazama EBV infekcije (prema 21)

Protutijela	Akutna infekcija	Prošla infekcija	Reaktivacija	Kronična infekcija
IgM anti-VCA	+	-	+/-	-
IgG anti-VCA	+	+	+	++
IgG anti-EA	+	-	+	+/-
IgG anti-EBNA	-	+	+	++

3.3. Upalna bolest crijeva i Epstein-Barrov virus

Istraživanja o povezanosti upalne bolesti crijeva i Epstein-Barrovog virusa započeta su prije dvadesetak godina, konkretno nakon otkrića pojave hemofagocitičnog sindroma u 19-godišnjeg mladića s Crohnovom bolešću. Iako je hemofagocitični sindrom ranije opisivao kod bolesnika s transplantiranim bubrezima, 1995. godine je opisan prvi slučaj ovog tipa infekcije u bolesnika s upalnom bolesti crijeva liječenog azatioprinom i glukokortikoidom koji je umro od posljedica fatalne primarne EBV infekcije (23).

Mnoga istraživanja kasnije provedena su upravo s ciljem pronalaska povezanosti između infekcije Epstein-Barrovim virusom, kronične upalne aktivnosti crijevne sluznice te imunosupresivne terapije kao potencijalnih induktora maligne alteracije limfnog sustava u IBD bolesnika. Uz sve ostale potencijalne rizične čimbenike razvoja limfoproliferativnih poremećaja u IBD bolesnika mlađe životne dobi, EBV infekcija predstavlja iznimnu opasnost upravo zato što EBV virus u svojoj latentnoj fazi može inicirati malignu transformaciju limfocita koja rezultira nekontroliranom proliferacijom B-limfocita ili nastankom limfoproliferativne bolesti. No EBV virus može biti iznimno opasan i kod primoinfekcije ako se ona dogodi u bolesnika koji se liječe imunosupresivnim lijekovima odnosno kada se u tih bolesnika odvije serokonverzija upravo zbog njihovog promijenjenog imunskog sustava djelovanjem lijekova (24, 25, 26, 27). Upala i promjena imunskog sustava se same po sebi smatraju odgovornima za limfogenezu u upalnim bolestima crijeva i autoimunskim poremećajima (28). No na limfogenezu utječe i EBV koji posredstvom djelovanja latentnih gena i perzistentne infekcije može dovesti do blastne transformacije B-limfocita. Dakle kada dođe do međudjelovanja kronične upale, alteracije imunskog sustava i EBV-infekcije, kao što je to moguće u bolesnika s upalnim bolestima crijeva, mogući je ishod nastanak limfoproliferativne bolesti.

Mlađi IBD bolesnici čine skupinu posebno zanimljivu istraživačima iz razloga što je životno razdoblje kad im se dijagnosticira IBD, ujedno i vrijeme sekundarnog vrha incidencije EBV infekcije. Incidencija Epstein-Barrovog virusa pokazuje bimodalnu distribuciju, prvi skok incidencije vidljiv je kod djece mlađe od 5 godina te drugi skok incidencije u adolescenata u dobi između 15 i 24 godine (27). Ova skupina bolesnika pod posebnim je rizikom za razvoj limfoproliferativnih poremećaja iz nekoliko razloga. Prvo, više istraživača upozorilo je na moguću povezanost EBV serokonverzije ili EBV primoinfekcije i razvitka limfoproliferativnih poremećaja u mlađih IBD bolesnika (24, 26, 27). Drugo, evidentno je da tiopurinski lijekovi kojima se liječe IBD bolesnici predstavljaju rizični čimbenik za razvoj limfoproliferativnih bolesti, ali i ostalih malignih tumora. Treći razlog koji izdvaja mlade IBD bolesnike je činjenica da se ti bolesnici upravo zbog ranog dijagnosticiranja bolesti liječe imunosupresivima duži period života, a ekspozicija imunosupresivnim lijekovima kroz duži niz godina povećava rizik razvoja poremećaja limfnog sustava i malignih bolesti. Ujedno kako populacija IBD bolesnika stari, produžuje se i vremensko trajanje kronične upale sluznice gastrointestinalnog trakta te uz utjecaj imunosupresivne terapije povećava rizik razvoja limfoproliferativnih poremećaja i općenito ostalih malignih bolesti (28, 29, 30, 31, 32).

4. Hipoteza

Hipoteza ovog rada je da je EBV serološki status u bolesnika s upalnom bolesti crijeva u našoj populaciji sličan serološkom statusu bolesnika u drugim istraženim populacijama.

5. Cilj rada

Cilj ovog rada bio je analizirati EBV serološki status bolesnika s Crohnovom bolešću i bolesnika s ulceroznim kolitisom koji se liječe u Ambulanti za upalne bolesti crijeva KBC-a Zagreb i istražiti značaj EBV serološkog statusa u IBD bolesnika do sada opisan u literaturi.

6. Ispitanici i metode rada

Istraživanje je uključilo odrasle bolesnike s upalnom bolesti crijeva liječene u Ambulanti za upalne bolesti crijeva Kliničkog bolničkog centra Zagreb, Referentnog centra za upalne bolesti crijeva Ministarstva zdravlja Republike Hrvatske. Izvor podataka bio je bolnički informatički sustav (BIS) te je pregledana medicinska dokumentacija od ukupno 161 bolesnika, a analiza seroloških podataka učinjena je u 99 bolesnika. Bolesnici uključeni u istraživanje imali su u povijesti bolesti evidentirane rezultate seroloških testiranja na EBV, ostali bolesnici koji nisu imali učinjenu EBVserološku obradu isključeni su iz analize. U obradi podataka pozitivni nalazi na VCA IgM i VCA IgG definirani su kao EBV seropozitivni. Analiza prikupljenih podataka od bolesnika obrađena je metodama deskriptivne statistike u MS Excelu putem opcije Data analysis.

7. Rezultati

U istraživanju je analizirano ukupno 99 bolesnika liječenih u Ambulanti za upalne bolesti crijeva u razdoblju od listopada 2016. do siječnja 2017. godine. Evidentirani su sljedeći parametri bolesnika: dob, spol, klinički fenotip upalne bolesti crijeva (CB ili UC), godina dijagnosticiranja bolesti, EBV serološki status i lijekovi kojima su bolesnici liječeni.

Tablica 7. Demografski podaci IBD bolesnika uključenih u istraživanje

Demografski podaci	CROHNOVA BOLEST (N=67)	ULCEROZNI KOLITIS (N=32)
SPOL, n (%)	M-38 (56.7) Ž-29 (43.3)	M-20 (62.5) Ž-12 (37.5)
DOB	Mean = 35.0 Raspon (19-62)	Mean = 43.3 Raspon (22-65)
TRAJANJE BOLESTI	Mean = 9.8 Raspon (1-30)	Mean = 8.9 Raspon (1-32)
EBV STATUS	IgM pozitivan = 4 IgG pozitivan = 61 IgG negativan = 6	IgM pozitivan = 2 IgG pozitivan = 31 IgG negativan = 1

Od ukupno 99 uključenih bolesnika njih 67 imalo je Crohnovu bolest, a 32 bolesnika imalo je ulcerozni kolitis. U obje skupine bilo je više bolesnika muškog spola, tako je u skupini s CB bilo 56.7% muških bolesnika, dok je u skupini s UK bilo 62.5% muških bolesnika. Srednja dob za ukupni broj bolesnika iznosi 37.7 godina.

U skupini bolesnika s Crohnovom bolešću utvrđeno je 6 EBV seronegativnih osoba dok je u skupini bolesnika s ulceroznim kolitisom utvrđen jedan seronegativan bolesnik. Ostali

rezultati obrade serološkog statusa bolesnika po dobnim skupinama svih UK i CB bolesnika vidljivi su u tablici 8.

Tablica 8. EBV serološki status u IBD bolesnika

Dob (g)	EBV IgG poz	EBV IgG neg	Broj bolesnika
18-27	15	5	20
28-37	33	2	35
38-47	20	0	20
48-57	16	0	16
58-67	8	0	8
Ukupno	92	7	99

Iz analize podataka evidentno je da su svi seronegativni bolesnici identificirani do 37-e godine starosti. U dobnoj skupini od 18 do 27 godina utvrđeno je 5 seronegativnih bolesnika, a dodatna 2 bolesnika utvrđena su u dobnoj skupini bolesnika od 28 do 37 godina starosti. Sveukupno 7 bolesnika bilo je seronegativno.

Bolesnici iznad 37 godina starosti 100% su EBV seropozitivni.

U tablici 9. Prikazana je analiza podatka za skupinu bolesnika koji su identificirani kao seronegativni. Iz rezultata je vidljivo da su svi seronegativni bolesnici mlađi od 30 godina. Tablica prikazuje i lijekove kojima su bolesnici primali u svom dosadašnjem liječenju.

Detaljnija analiza demografskih podataka za EBV-negativne bolesnike evidentirala je da je pet bolesnica ženskog spola seronegativno, od toga četiri s CB i 1 bolesnica s UK. Dvoje seronegativnih muških bolesnika imalo je dijagnozu Crohnove bolesti. Raspon trajanja bolesti u svih seronegativnih IBD bolesnika u ovom istraživanju je od 1-16 godina, sa srednjom vrijednosti trajanja bolesti od približno 8.6 godina. Analizom podataka o lijekovima kojima su

bolesnici bili izloženi tijekom liječenja bolesti utvrđeno je da je četvero bolesnika liječeno adalimumabom, troje azatioprinom , dvoje infliksimabom i dvoje metotreksatom.

Tablica 9. Demografski podaci svih EBV-negativnih bolesnika

Demografski podaci	CROHNOVA BOLEST (N=6)	ULCEROZNI KOLITIS (N=1)
SPOL	Žensko – 4 ; Muško – 2	Žensko - 1
DOB (svi)	Srednja vrijednost dobi = 24.6 Raspon dobi (20-30)	
TRAJANJE BOLESTI (svi)	Srednja vrijednost trajanja bolesti = 8.6 Raspon trajanja bolesti (1-16)	
Lijekovi	ADA – 4 AZA – 3 IFX – 2 MTX – 1	MTX – 1

8. Rasprava

Upalne bolesti crijeva čine skupinu kroničnih, upalnih, idiopatskih poremećaja koji zahvaćaju probavni trakt od usta do anusa i čiji klinički tijek varira od stanja remisije do stanja teških agresivnih oblika upalne aktivnosti. Najčešća dva klinička entiteta su Crohnova bolest i ulcerozni kolitis, te se u oba oblika pojavljuju osnovni simptomi ovih bolesti, proljev i bolovi u trbuhu. Svaka od ovih dviju bolesti ima svoje kliničke i dijagnostičke specifičnosti po kojima se razlikuju, no u 10-15% nije moguće determinirati fenotip te se tada bolesnici svrstavaju u skupinu intermedijarne bolesti. U patogenezu upalnih bolesti crijeva uključeni su poremećaj imunološkog odgovora te djelovanje vanjskih čimbenika okoliša u osoba koje imaju genetsku predispoziciju za razvoj bolesti. Na globalnoj razini primijećen je porast incidencije malignih bolesti, ponajviše zahvaljujući fenomenu starenja populacije, a zbog prirode kronične upalne bolesti i djelovanja imunomodulatorne terapije IBD bolesnici imaju dodatni povećani rizik razvoja oportunističkih infekcija i maligniteta. Pri tom studije posebno ističu povezanost upalne bolesti crijeva s Epstein-Barrovim virusom. S druge strane, imunosupresivnom terapijom koja uključuje tiopurinske lijekove i biološku terapiju, moguće je uspostaviti dugotrajnu remisiju bolesti, ali se među imunosupresivima osobito azatioprin povezuje s povećanim rizikom nastanka limfoproliferativnih poremećaja (25,30,31). Iz tog razloga se specijalisti gastroenterolozi koji liječe IBD bolesnike, sve češće susreću s problemom da se njihovim bolesnicima de novo dijagnosticira malignom.

Rad je retrospektivno istraživanje kojom su analizirani bolesnici koji su u razdoblju od listopada 2016. do siječnja 2017.godine liječeni u Ambulanti za upalne bolesti crijeva Kliničkog bolničkog centra Zagreb koji je i Referentni centar za upalne bolesti crijeva Ministarstva zdravlja Republike Hrvatske.

U istraživanju su inicijalno analizirani podaci 161 bolesnika iz Ambulante za upalne bolesti crijeva no detaljnijom analizom njihovih podataka u BIS-u isključeno je 62 bolesnika koji nisu imali kompletirano EBV serološko testiranje.

Analizom demografskih podataka svih bolesnika uključenih u samo istraživanje utvrđeno je više bolesnika muškog spola, u skupini s CB bilo je 56.7% muških bolesnika, dok je u skupini s UK bilo 62.5% muških bolesnika. Srednja dob bolesnika s ulceroznim kolitisom bila je 43 godine, sa rasponom godina od 22 do 65 godina starosti bolesnika. U skupini bolesnika sa Crohnovom bolešću srednja dob bolesnika iznosila je 35 godina u ovom istraživanju, sa rasponom od 19 do 62 godine starosti. Analizom podataka trajanja bolesti evidentirana je srednja dob trajanja bolesti približno jednaka u obje promatrane skupine bolesnika.

Analizom podataka seroloških testiranja utvrđeno je da je u skupini bolesnika s Crohnovom bolešću veća učestalost EBV seronegativnih osoba nego u skupini bolesnika s ulceroznim kolitisom, odnosno 6 (8.9 %) seronegativnih bolesnika od ukupno 67 bolesnika. U skupini bolesnika s UK od ukupno 32 bolesnika utvrđen je samo jedan seronegativan bolesnik (3.1%). Iz daljnje analize podataka o dobi seronegativnih IBD bolesnika proizlazi da su svi seronegativni bolesnici identificirani do 37 godine starosti s time da je najveća incidencija u skupini bolesnika u dobnom rasponu od 18 do 27 godina starosti. Sveukupno 7 (7.1 %) bolesnika bilo je seronegativno od ukupne skupine. U dobnoj skupini između 18 i 27 godina starosti seropozitivnost je iznosila 75 % dok je u skupini bolesnika iznad 37 godina starosti vidljiv rezultat seropozitivnosti od 100 %. Seronegativni bolesnici u skupini s Crohnovom bolesti ukazali su na posebnu zanimljivost jer je u toj skupini utvrđeno više bolesnica ženskog spola koje su bile EBV seronegativne, a samo dvoje bolesnika muškog spola.

Nedavne studije ukazuju na velik problem limfoproliferativnih poremećaja u bolesnika s upalnom bolešću crijeva i EBV infekcijom, bilo latentnom infekcijom ili primoinfekcijom te posebice ističu IBD specifične faktore rizika poput muškog spola, ranu pojavu bolesti i dob

iznad 65 godina (30, 31, 33 34, 35). U provedenom istraživanju prema podacima prikupljenima iz medicinske dokumentacije bolesnika koji su utvrđeni kao seronegativni analizirana je i njihova terapija koju su dobivali tijekom liječenja bolesti. Analiza njihove terapije ustvrdila je da su svi bolesnici bili na imunosupresivnoj terapiji.

Mnogi istraživači objavili su prikaze slučaja u kojima opisuju pojavu limfoproliferativnih poremećaja u IBD bolesnika mlađe životne dobi koji su liječeni azatioprinom, a bili su EBV seronegativni ili se kod njih tokom terapije odvila serokonverzija (27).

Analiza nizozemske baze podataka IBD bolesnika otkrila je da je više od 90% bolesnika sa EBV-seropozitivnim limfomom bilo liječeno imunosupresivnim lijekovima (34, 36). Ondrej Hradsky i suradnici su nadalje u svojoj studiji provedenoj u skupini bolesnika dječje i adolescentne dobi (25) potvrdili dosadašnja zapažanja kako je dob IBD bolesnika i terapija azatioprinom povezana s EBV seropozitivnošću (34). Rezultati njihove studije pokazali su signifikantnu različitost EBV seropozitiviteta djece tijekom djetinjstva ovisno o tome jesu li liječeni azatioprinom i zaključili da se EBV seropozitivnost povećava tijekom odrastanja.

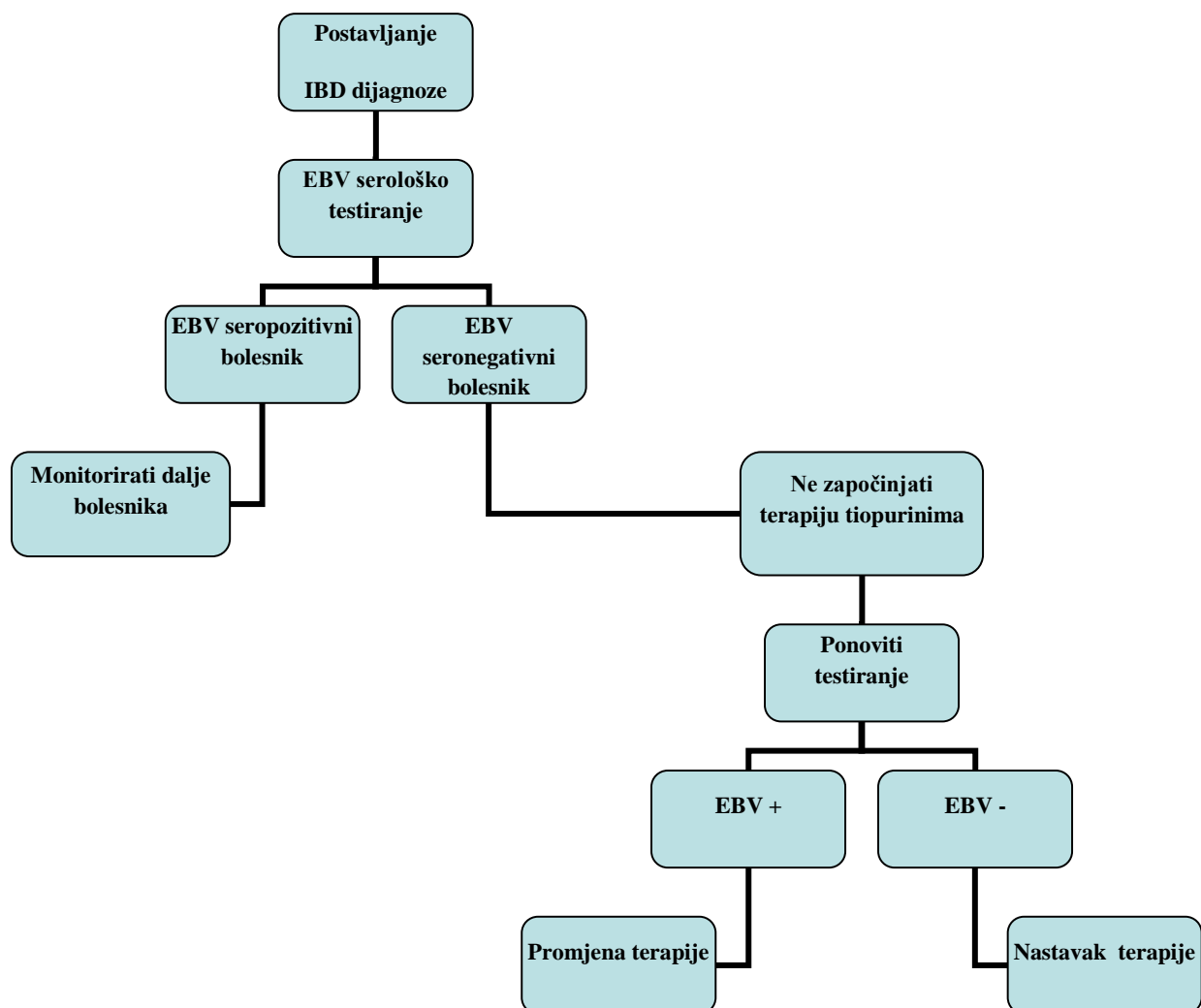
Bolesnici s upalnom bolesti crijeva često se liječe tiopurinskim i anti-TNF lijekovima od mlade životne dobi. Nedavni prikazi slučajeva upozoravanju na moguću povezanost hemofagocitične limfohistiocitoze s primarnom EBV infekcijom koja se aktivirala dok su bolesnici bili imunosuprimirani (37). Nekoliko daljnjih studija istraživalo je povezanost između imunosupresivne terapije u IBD bolesnika i konkretan rizik od razvoja limfoma. Afif i suradnici u svom istraživanju slučajeva-kontrola izvijestili su o povećanom riziku nastanka limfoma u IBD bolesnika koji su liječeni imunosupresivima te je u 75 % bolesnika koji su razvili limfom izoliran EBV virus (38).

Nadalje Beaugerie i suradnici ustanovili su prospektivnim istraživanjem u svojoj kohorti kako je rizik razvoja limfoproliferativnih poremećaja u bolesnika na tiopurinskoj terapiji peterostruko povećan u odnosu na one koji nisu liječeni tiopurinima (30).

S obzirom na rezultate ovih studija recentno se sugerira uvođenje EBV serološkog testiranja u bolesnika mlađe i srednje životne dobi prije započinjanja imunosupresivne terapije. Istraživači dalje navode kako bi trebalo uzeti u obzir i rijetkost pojave ovih rizika, no svakako ona nije zanemariva s obzirom da može imati fatalan ishod. Dapače, Grace Y Lam i suradnici u svojem radu (27) predlažu algoritam terapijske strategije u bolesnika s upalnom bolesti crijeva s obzirom na njihov EBV serološki status (Slika 1). Iz algoritma je evidentna preporuka da je kod samog postavljanja dijagnoze upalnih bolesti crijeva potrebno provesti serološko testiranje na Epstein-Barrov virus. Također smatraju da je kod EBV seronegativnih IBD bolesnika potrebno odgoditi terapiju tiopurinskim lijekovima ukoliko je to moguće te u tijeku liječenja pratiti EBV serološki status retestiranjem (27).

U ovom istraživanju od ukupnog broja bolesnika 7.07 % je bilo seronegativno, a najviša stopa seronegativnih bolesnika utvrđena je u dobi između 18 i 27 godina te je ona iznosila 25 %. U dobnoj skupini bolesnika između 28 i 37 godina utvrđeno je još dvoje seronegativnih bolesnika, a svi bolesnici iznad 37 godina starosti bili su EBV seropozitivni. Podaci dobiveni u ovom istraživanju u korelaciji su s podacima svjetskih istraživanja. S obzirom na opisane rezultate svjetskih studija koji upozoravaju na važnost provjere EBV serološkog statusa u bolesnika s upalnim bolestima crijeva provedeno je i ovo istraživanje kako bi se identificirali potencijalno rizičniji IBD bolesnici za razvoj maligne bolesti odnosno kandidati za intenzivnije praćenje kako bi se na vrijeme otkrili počeci maligne transformacije.

Slika 1. Terapijski algoritam liječenja IBD bolesnika prema EBV serološkom statusu (modificiran prema 27)



9. Zaključci

Cilj ovog istraživanja bio je procijeniti prevalenciju Epstein-Barrovog virusa u populaciji IBD bolesnika Ambulante za upalne bolesti crijeva Kliničkog bolničkog centra Zagreb, Referentnog centra za upalne bolesti crijeva Ministarstva zdravlja Republike Hrvatske te istražiti značaj EBV serološkog statusa u IBD bolesnika do sada opisan u literaturi.

Prevalencija EBV seronegativnih IBD bolesnika u ovom istraživanju, u dobi između 18-27 godina starosti iznosi 25%, što je u skladu s rezultatima istraživanja u općoj populaciji u toj životnoj dobi. Podatci EBV statusa u istraživanju u ostalim dobnim skupinama također su usporedivi s rezultatima objavljenih istraživanja te potvrđuju kako proporcija seropozitivnih bolesnika raste usporedno s dobi. Bolesnici s upalnom bolesti crijeva čine posebno osjetljivu skupinu zbog povišenog rizika razvoja gastrointestinalnih i ekstraintestinalnih malignih bolesti, a imunosupresivni lijekovi kojima su izloženi tijekom života mijenjaju njihov imunosni sustav te u konačnici mogu potaknuti i razvoj malignih bolesti. Promijenjen imunosni sustav u IBD bolesnika liječenih azatioprinom i mogućnost blastne transformacije EBV zaraženih limfocita potiču rizik razvoja limfoma te je stoga razumno prije liječenja provjeriti serološki status IBD bolesnika radi adekvatnije procjene rizika i kreiranja intenzivnijeg programa praćenja za bolesnike s višim rizikom razvoja maligniteta.

10. Zahvale

Zahvaljujem svojoj mentorici Doc. dr. sc. Silviji Čuković-Čavki na ideji, pomoći i savjetima te na kliničkom znanju i iskustvu koje sam stekla od nje tijekom pisanja rada.

Zahvaljujem liječnicima i ostalom osoblju Zavoda za gastroenterologiju i hepatologiju KBC Zagreb na kojem sam provela vrijeme tijekom pripreme podataka za ovaj rad.

Najviše zahvaljujem svojoj obitelji i najbližima u potpori, pomoći i strpljenju koje su mi pružali tokom studiranja.

11. Literatura

1. Vucelić B, Čuković-Čavka S. Upalne bolesti crijeva. *Medicus* 2006;15(1):53-62.
2. Irvine EJ, Farrokhyar F, Swarbrick ET. A critical review of epidemiologic studies in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol.* 2001;36(2):2-15.
3. Burisch J, Jess T, Martinato M, Lakatos PL. The burden of inflammatory bowel disease in Europe on behalf of ECCO-EpiCom. *J Crohns Colitis.* 2013;7(4):322–337.
4. Cho JH, Brant SR. Recent insights into the genetics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2011;140(6):1704–1712.
5. Loddo I, Romano C. Inflammatory bowel disease: genetics, epigenetics, and pathogenesis. *Front Immunol.* 2015; 6:551. doi:10.3389/fimmu.2015.00551
6. Abegunde A T, Bashir HM , Owais B, Tauseef A (2016) Environmental risk factors for inflammatory bowel diseases: Evidence based literature review. *World J Gastroenterol* 22(27):6296-6317
7. Lakatos PL, Szamosi T, Lakatos L. Smoking in inflammatory bowel diseases: Good, bad or ugly? *World J Gastroenterol.* 2007;13(46): 6134-6139.
8. Ananthakrishnan AN. Environmental Risk Factors for Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology & Hepatology.* 2013; 9(6):367-374.
9. Casen C, Vebo HC, Sekelja M, Heffe FT, Karlsson MK, Cierniejewska E, i sur. Deviations in human gut microbioma: a novel diagnostic test for determining dysbiosis in patients with IBS or IBD. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;42(1):71-83.
10. Shaw SY, Blanchard JF, Bernstein CN. Association between the use of antibiotics in the first year of life and pediatric inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol.* 2010;105(12):2687-2692.

11. Norman JM, Handley SA, Baldrige MT, Droit L, Liu CY, Keller BC, i sur. Disease specific alterations in the enteric virome in inflammatory bowel disease. *Cell*. 2015;160(3):447–460.
12. <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/bolesti-probave/upalne-bolesti-crijeva>
13. Čuković-Čavka S, Vucelić B, Crnčević Urek M, Brinar M, Turk N. Mjesto anti-TNF terapije u liječenju ulceroznog kolitisa. *Acta Med Croatica* 2013;67:171-177.
14. Kujundžić M. Uloga biološke terapije u liječenju ekstraintestinalnih manifestacija i komplikacija upalnih bolesti crijeva. *Acta Med Croatica* 2013;67:195-201.
15. Katičić M. Indeksi aktivnosti upalnih bolesti crijeva. *Acta Med Croatica* 2013;67 93-110.
16. Travis SP, Schnell D, Krzeski P, Abreu MT, Altman DG, Colombel JF, i sur. Developing an instrument to assess the endoscopic severity of ulcerative colitis: the Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity (UCEIS). *Gut*. 2012;61(4):535–542.
17. Ikeya K, Hanai H, Sugimoto K, Osawa S, Kawasaki S, Iida T, i sur. (2015) The Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity More Accurately Reflects Clinical Outcomes and Long-term Prognosis than the Mayo Endoscopic Score. *J Crohns Colitis* 10(3): 286-295
18. Bernstein CN. Treatment of IBD: Where We Are and Where We Are Going . *Am J Gastroenterol*. 2015;110:114–126. doi: 10.1038/ajg.2014.357
19. Vucelić B, Čuković-Čavka S, Banić M, Bilić A, Borzan V, Duvnjak M, et al. Hrvatski konsenzus o liječenju upalnih bolesti crijeva biološkom terapijom. *Acta Med Croatica*. 2013;67 75-87.
20. Draborg AH, Duus K, Houen G. Epstein-Barr Virus in Systemic Autoimmune Diseases. *Clin Dev Immunol*. 2013; doi: 10.1155/2012/370516

21. Begovac J, Božinović D, Lisić M, Baršić B, Schonwald S, i sur. Infektologija. Zagreb: Profil International; 2006.
22. De Paschale M, Clerici P. Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection: Problems and solutions. *World J Virol* 2012;1(1): 31-43.
23. Posthuma EF, Westendorp RG, van der Sluys Veer A, Kluin-Nelemans JC, Kluin PM, Lamers CB. Fatal infectious mononucleosis: a severe complication in the treatment of Crohn's disease with azathioprine. *Gut*. 1995;36(2): 311–313.
24. Allen PB, Laing G, Connolly A, O'Neill C. EBV-associated colonic B-cell lymphoma following treatment with infliximab for IBD: a new problem? *BMJ Case Rep* 2013; doi: 10.5430/crim.v1n2p202
25. Hradsky O, Copova I, Zarubova K, Durilova M, Nevoral J, Maminak M, i sur. Seroprevalence of Epstein-Barr Virus, Cytomegalovirus, and Polyomaviruses in Children with Inflammatory Bowel Disease. *Dig Dis Sci*. 2015; 60 (11): 3399-3407.
26. Kandiel A, Fraser AG, Korelitz BI, Brensinger C, Lewis JD. Increased risk of lymphoma among inflammatory bowel disease patients treated with azathioprine and 6-mercaptopurine. *Gut* 2005;54(8):1121–1125.
27. Lam GY , Halloran BP, Peters AC , Fedorak RN. Lymphoproliferative disorders in inflammatory bowel disease patients on immunosuppression: Lessons from other inflammatory disorders. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2015;6(4): 181-192.
28. Magro F, Peyrin-Biroulet L, Sokol H, Aldeger X, Costa A, Higgins PD, i sur. Extra-intestinal malignancies in inflammatory bowel disease: results of the 3rd ECCO Pathogenesis Scientific Workshop (III). *J Crohns Colitis*. 2014;8(1):31–44.
29. Axelrad JE, Lichtiger S, Yajnik V. Inflammatory bowel disease and cancer: The role of inflammation, immunosuppression, and cancer treatment. *World J Gastroenterol* 2016;22(20): 4794-4801.

30. Beaugerie L, Sokol H, Seksik P. Noncolorectal malignancies in inflammatory bowel disease: more than meets the eye. *Dig Dis*. 2009;27(3):375-381.
31. Beaugerie L, Svercek M, Seksik P, Bouvier AM, Simon T, Allez M, i sur. CESAME Study Group. Risk of colorectal high-grade dysplasia and cancer in a prospective observational cohort of patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2013;145(1):166-175
32. Ciccocioppo R. Human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus infection in inflammatory bowel disease: Need for mucosal viral load measurement. *World J Gastroenterol*. 2015;21(6):1915-1926.
33. Annese V, Beaugerie L, Egan L, Biancone L, Bolling C, Brandts C, i sur. European Evidence-based Consensus: Inflammatory Bowel Disease and Malignancies. *J Crohns Colitis*. 2015;9 (11): 945-965.
34. Linton MS, Kroeker K, Fedorak D, Dieleman L, Fedorak RN. Prevalence of Epstein-Barr Virus in a population of patients with inflammatory bowel disease: a prospective cohort study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013;38(10):1248-1254.
35. N’Guyen Y, Andreoletti L, Patey M, Lecoq- Lafon C, Cornillet P, Leon A, i sur. Fatal Epstein-Barr virus primo infection in a 25-year-old man treated with azathioprine for Crohn’s disease. *J Clin Microbiol*. 2009;47(4): 1252–1254
36. Vos AC, Bakkal N, Minnee RC, Casparie MK, de Jong DJ, Dijkstra G, i sur. Risk of malignant lymphoma in patients with inflammatory bowel disease: a Dutch nationwide study. *Inflamm Bowel Dis*. 2011;17(9): 1837-1845
37. Biank VF, Sheth MK, Talano J, Margolis D, Simpson P, Kugathasan S, i sur. Association of crohn’s disease, thiopurines, and primary epstein-barr virus infection with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Pediatr*. 2011;159(5): 808–812

38. Afif W, Sandborn WJ, Faubion WA, Rahman M, Harmsen SW, Zinsmeister AR, et al. Risk factors for lymphoma in patients with inflammatory bowel disease: a case-control study. *Inflamm Bowel Dis* 2013;19(7):1384–1389.

12. Životopis

Rođena sam 28.10.1991. godine u Čakovcu. Osnovnu školu pohađala sam u selu Strahoninec, gdje sam i odrasla. Srednju školu pohađala sam u Čakovcu, prirodoslovno-matematički smjer gimnazije " Josip Slavenski " Čakovec. Medicinski fakultet u Zagrebu upisala sam 2010. godine.